

变形虫在紫外辐射损伤及其恢复 过程中核质作用的观察*

薛开先**

(江苏省肿瘤防治研究所)

细胞代谢、分化和遗传过程中核质关系的研究是一个十分活跃的领域 (Matts, 1973; Puiseux-Dao, 1975; D'Amato, 1977)。但辐射损伤及其恢复过程中核质关系的研究较少; 而且初步研究还表明, 在不同类型的细胞中, 核质关系的表现可有差异 (Ord, 1956; Iverson, 1958; Errera 1959; Ameta, 1962; Upton, 1963)。本文利用切割细胞质的方法, 研究了细胞质在变形虫紫外辐射损伤及其恢复过程中的作用, 并讨论了切割手术损伤的问题。

实验材料与方法 *Amoeba discoides* 是一个单核细胞, 单细胞分离培养, 辐射处理等一般过程均与另一报告中所叙述的相同 (薛开先, 1980)。实验一共做了5次, 每次实验6个组: 对照完整变形虫、对照有核的一半、对照无核的一半、辐射完整变形虫、辐射有核的一半、辐射无核的一半。根据紫外光测定仪的测试, 在紫外光杀菌灯发射剂量稳定的一段时间完成同一次实验。辐射变形虫的切割, 于处理后15分钟, 在红光下用微细玻璃针尖将变形虫切成无核和有核的两半, 尽可能使两者的体积大致相等。若相差悬殊, 就抛弃不用。实验中所用的变形虫, 均是来自于同一个变形虫的后代群体, 因此, 它们在遗传上和生理上应是相对同质的。

结果与讨论

现将我们的实验结果简述和讨论如下:

一、切割手术损伤的问题

变形虫切割细胞质的方法, 在核质关系的研究中不断被采用 (Brachet, 1959, 1955; Mazia, 1951; Prescott, 1956; Skreb, 1957, 1962, 1964等)。但这些作者没有详细地

* 本文的实验工作是在武汉大学生物系完成的。

** 作者的目前通讯处是 (南京) 江苏省肿瘤防治研究所细胞室。
本文于1979年10月14日收到。

观察, 切割手术可能给实验结果带来的影响。如果不顾及这一点, 作出的结论往往是难以令人信服的。本实验从如下几个方面考察了这个问题。

1、切割400个以上的变形虫, 不论是否经过辐射处理, 无一因手术造成自溶的。刚切割的有核一半变形虫, 即能活跃运动, 积极捕食四膜虫。部分无核的一半亦能活跃运动;

2、有核的一半与完整变形虫进行单细胞培养时, 通过第一次分裂的比率分别是148/178和147/178, 显然十分相近;

3、大多数有核的一半待体积约增加至通常分裂前的体积时才进入分裂, 因此必有一个分裂延迟期。据5次实验的结果, 平均延迟时间为对照组的37%, 最短的一个实验组(第5次)有核的一半的分裂延迟仅为对照组的21%。在*Amoeba proteus*因不等分裂形成的小变形虫, 尽管有较高代谢速率, 仍有一个分裂延迟(Prescott 1956a)。这样看来, 有核一半的分裂延迟主要是加速物质合成, 以补偿失去的细胞质。如果手术切割又引起了显著的创伤, 分裂延迟就不会如此之短;

4、在活跃增殖的对照变形虫群体中, 亦可分离出小变形虫, 其体积与切割的有核一半相仿佛。根据以上的观察与分析, 我们以为, 在本实验中未观察到切割手术本身引起变形虫的明显损伤, 尽管理论上还不能完全排除这种创伤的可能性。

二、对照变形虫核质关系的一般观察

对照变形虫刚切下的无核一半, 大部分仍能伸缩伪足, 变形运动, 但不久就变成圆球形。对外界刺激反应迟钝, 失去捕捉四膜虫的能力。在切割后两天内, 仍有少数无核一半能产生异常的细胞质流, 有时还能作短暂的变形运动。继续培养, 无核一半就开始大量自溶, 残存的时间长短, 与培养温度有密切关系。培养温度在26°C上下时, 大量自溶发生在第四到第五天, 如果培养温度升高到29°C±2°C时, 则大量自溶发生在第三天前。最终全部无核一半自溶, 这说明脱离了细胞核的细胞质, 就不能生长与繁殖。

对照变形虫刚切下的有核一半, 立即紧贴培养器皿的底壁, 活跃地变形运动, 并捕食四膜虫。经一段时间培养后, 少数有核一半和完整变形虫差不多同时开始分裂, 其中一些形成两个小的子细胞, 显然原生质很少合成。据Mazia(1951)对*A. proteus*的分析, 切割时这些变形虫已处在有丝分裂阶段, 此时细胞分裂既定了, 不受细胞质的体积所左右。但是, 大多数有核一半待细胞体积增长到通常分裂前体积时, 才开始分裂。因此, 切割后第一次分裂被延迟, 据我们5次实验的平均值, 较对照完整变形虫约延长2/5。一般在第二次分裂就出现补偿效应, 此时细胞分裂加速, 并持续维持几次分裂。经过这一补偿阶段后, 有核一半单细胞株变形虫平均数, 接近对照的水平, 然后细胞分裂速率或稍稍下降后就恢复到对照水平(参见图1)。

不同群体的变形虫, 对失去一半细胞质的反应不同。我们观察到是较大分裂延迟的实验组Ⅳ的有核一半, 在第一次分裂延迟后, 细胞分裂速率虽有所恢复, 但未达到对照水平, 最后稳定在完整变形虫分裂速率的60%上下, 尽管此时变形虫已培养9天, 平均已完成3次分裂, 其他四组实验均出现典型的补偿效应(图1)。

总结上述有核一半分裂延迟的实验结果可以看出, 一定数量的细胞质是细胞分裂所

必需的。

三、辐射损伤及其恢复过程中核质关系的观察

从对照或辐射变形虫切下的无核一半, 残存一段时间后自溶。这说明失去核的细胞质, 永久丧失了生长和繁殖的能力。已有实验表明, 无核细胞质的代谢过程发生了显著的变化, 刚切下的细胞质对细胞内的正常能源贮备; 糖原和脂肪尚可利用, 但三天后停止, 相应地加强了对蛋白质的消耗, 在第三至第五天内蛋白质含量下降50%, RNA含量也大幅度下降。这种“自噬过程”(autophage) (Brachet, 1961) 就必然导致无核一半的自溶。

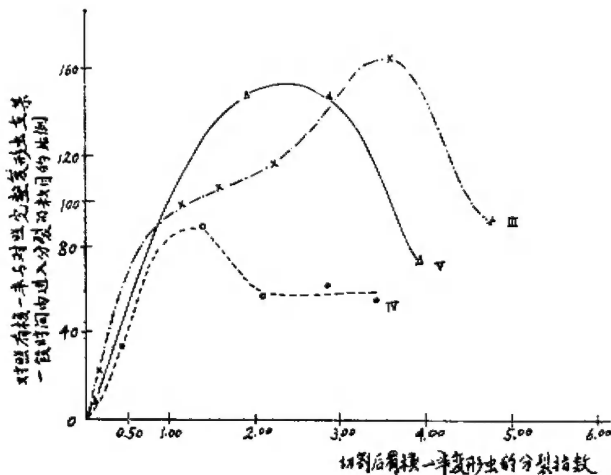


图1 切割后对照有核一半细胞分裂速率的变化。示切割一半细胞质后, 细胞分裂的抑制、恢复和补偿效应。图中Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ分别代表三次实验。

辐射变形虫的无核一半较对照无核一半提前自溶, 随着剂量的增大而显著。但在紫外光照射时间较短的(如10分钟)无核一半, 一部分提前自溶, 另一部分的自溶却较对照为迟, 几次实验均观察到这一现象, 其机理尚不清楚。

辐射变形虫切去一半细胞质后, 表现出较辐射完整变形虫有明显的辐射损伤。现将其中4次的实验结果整理在表1中。从表1中可见, 辐射有核一半通过第一次分裂的时间明显地较辐射完整变形虫延长。这延长的时间与辐射剂量有关。这里必须说明实验Ⅳ与实验Ⅴ的观察结果。从延长时间的绝对值来看, 紫外光照辐射20分钟实验Ⅴ反较照射15分钟实验Ⅳ为短, 它们分别为30小时和41小时。分析产生这一现象的可能原因, 其一是实验Ⅴ的辐射有核一半有较高的自溶率, 此时严重辐射损伤的有核一半已自溶, 必然减少了该组平均分裂延迟的时间; 另一可能的原因是两次实验所用变形虫群体的生理状态不同, 致使有不同的恢复损伤的能力, 因此我们计算了两次实验相应的对照变形

虫, 切去一半细胞质所引起的分裂延迟时间, 实验Ⅳ与实验Ⅴ分别是15和6小时, 前者是后者的2.5倍。这样看来, 上述结果就成为预料的了。

表 I 细胞质在紫外辐射损伤及其恢复过程中的作用

		实验Ⅰ	实验Ⅱ	实验Ⅳ	实验Ⅴ
每个实验组变形虫的数目		48	40	32	40
15w紫外光杀菌灯, 距离为100厘米, 照射的时间(分)		10	10	15	20
辐射后第一次分裂的延迟(小时)	完整变形虫	18	19	33	59
	有核一半	40	41	74	89
辐射后通过第一次分裂的百分率	完整变形虫	96	78	81	90
	有核一半	85	81	84	70
辐射有核一半增加的分裂延迟与相应对照有核一半分裂延迟的比值		$22/12 = 1.8$	$22/13 = 1.7$	$41/15 = 2.7$	$30/6 = 5.0$

从上表 I 中还可见, 在紫外光照射10、15分钟的剂量组, 辐射有核一半与辐射完整变形虫, 通过第一次分裂的百分率并无显著差别; 但剂量提高到照射20分钟时, 这个指标就表现出, 失去一半细胞质的降低了变形虫恢复辐射损伤的能力, 此时辐射有核一半的自溶率较辐射完整变形虫提高了20%。实验中也观察到, 该组辐射的有核一半, 切割后一天内绝大部分浮起, 并呈分枝状, 捕食减少, 这是生活力衰退的一种表现, 其中一部分在较长的时间内未见细胞体积增大。表现更为严重的辐射损伤者, 在细胞质中出现空泡, 不久自溶。未死亡的辐射有核一半逐渐恢复生长, 在一个较长的分裂延迟后进入第一次分裂; 而用同一剂量处理的完整变形虫, 辐射损伤表现较轻, 分裂延迟较短, 且细胞的自溶率与对照的完整变形虫相似。

我们比较了同一次实验中, 切除一半细胞质在辐射变形虫与对照变形虫引起的分裂延迟, 辐射的有核一半显示增长的分裂延迟, 而且两者的比值随剂量的增加而增大(参见表 I)。在实验Ⅴ还表明, 切去一半细胞质使辐射有核一半的自溶率较对照有核一半提高了17%。这些说明, 辐射损伤降低了有核一半恢复生长和分裂的能力, 这一效应随着剂量增加而显著。

辐射的完整变形虫在分裂延迟后, 出现一明显的分裂加速现象, 但切除一半细胞质的辐射有核一半, 在一个较长时间的分裂延迟后也出现分裂加速, 但其程度远较辐射的完整变形虫为低(参见图 I)。这同样也说明, 辐射的变形虫失去一半细胞质后, 降低了对辐射损伤恢复的能力。

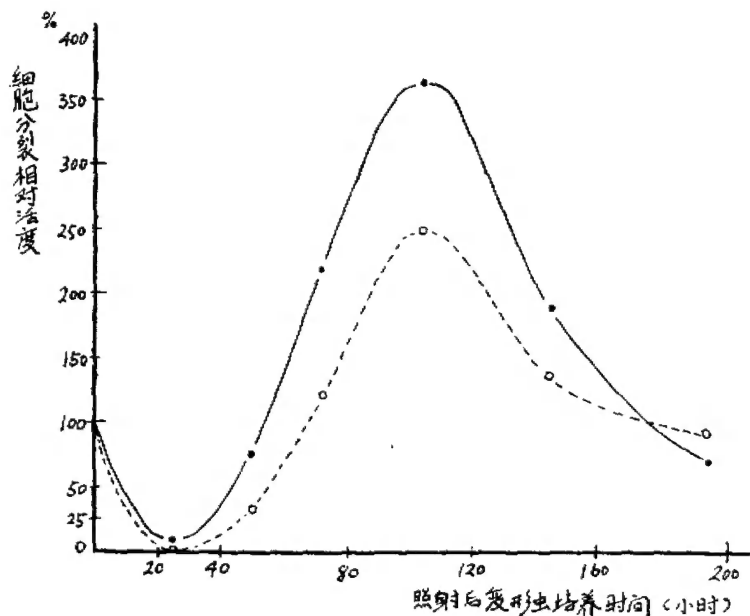


图 I 切除细胞质对变形虫辐射损伤恢复的影响

15W紫外光杀菌灯, 照射距离: 100厘米, 照射时间: 10分钟 辐射的完整变形虫

——●—— 辐射的有核一半 ○

小 结

总结本实验, 作者所采用的细胞质切割技术, 在变形虫未引起明显的手术创伤。失去核的细胞质永久丧失了生长和增殖的能力, 这说明核在细胞的生命过程中起着决定性作用。从辐射变形虫切下一半细胞质, 表现出明显的辐射损伤, 这种细胞质的辐射损伤, 在辐射的完整变形虫可能构成了辐射细胞学效应的一部分; 辐射变形虫切去一半细胞质后, 降低了辐射损伤的恢复能力, 这表现在增长了第一次分裂延迟时期、提高了自溶百分率、降低了分裂延迟后细胞分裂加速的程度。因此, 细胞质在辐射损伤及其恢复过程中也起着重要的作用。

Studies on nucleocytoplasmic relationship in ultraviolet radiation-induced damage and recovery from the damage in *Amoeba discoides*

Xue Kai-xian

(Cancer Institute of Jiangsu Province, Nanjing)

1. The cytoplasmic role played in ultraviolet radiation-induced damage and recovery from the damage in *Amoeba discoides* was investigated by means of cytoplasmic amputation and single-cell culture.

2. The survival time of the enucleate half of radiated amoeba was very much reduced than that of the control. It appeared that ultraviolet radiation injured the whole cytoplasm of amoeba.

3. Amputation of half the cytoplasm of radiated amoeba decreased greatly the capability for recovery from radiation damage as measured by radiation of division and subsequent acceleration of division or by death of radiated nucleate half.

4. It may be concluded that the cytoplasm played an important role in the UV radiation-induced damage as well as in recovery from the damage in amoeba.

参 考 资 料

薛开先 1980 变形虫细胞生长和分裂过程的研究 动物学研究, 1 (1) 65—74

Amenta, P. S. 1962 The effects of ultraviolet microbeam irradiation on the eosinophil granular leukocyte of *Titurus viridescens*. *Anat. Rec.* L42, 81—87.

Brachet, J. 1955 Recherches sur les interactions biochimique entre le noyan et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires I. *Amoeba proteus*. *Biochim. et biophys. Acta* 18, 247.

Brachet, J. 1959 New observation on biochemical interaction between nucleus

- and cytoplasm in amoeba and acetabularia. *Exp. cell Res. Suppl.* 6: 78—96.
- Brachet, J. 1961 Nucleocytoplasmic interaction in unicellular organisms. in "The cell" 2: 771—841, Acad. press, N. Y.
- D'Amato, F. 1977 Nuclear cytology in relation to development, Cambridge Univ. press, Cambridge.
- Errera, M. et al. 1959 Nucleocytoplasmic relationship in irradiation cell. *Exp. cell Res. Suppl.* 6: 268.
- Iverson, R. M. 1958 Nuclear transfer studies on ultraviolet irradiated *Amoeba proteus*. *Exp. cell Res.* 15, 268—270.
- Matts, J. W. 1973 Nucleocytoplasmic interaction. in "Cell biology in medicine", 265—288, Awiley-interscience publicance, N. Y.
- Mazia, D. & Hirschfield, H. 1951 Nucleocytoplasm in the action of ultraviolet radiation on *Amoeba proteus*. *Exp. cell Res.* 2: 58—72.
- Ord, M. J. & Danielli, J. T. E. 1956 The site of damage in *Amoeba proteus* exposed to x-rays. *Quart. J. Microscop. Sci.* 97: 29—37.
- Prescott, D. M. 1956a Relation between cell growth and cell division. II THE The effect of cell size on cell growth rate and generation time in *Amoeba proteus* *Exp. cell Res.* 11, 86—94.
- Prescott, D. M. 1956b Relation between cell growth and cell division III Change in nuclear volume and growth rate and prevention of cell division in *Amoeba proteus* resulting from cytoplasmic amputation. 11: 94—98.
- Puiseux-Dao, S. 1975 Molecular biology of nucleocytoplasmic relationships. Elsevier, Amsterdam.
- Skreb, Y. et Errera, M. 1957 Action des rayons UV sur des fragments nucléés et anucléés d'amibes. *Exp. cell Res.* 12: 649—656.
- Skreb, Y. et Bevilacqua, L. 1962 Acide ribonucleique et proteines ches les les fragments d'amiba irradiés, *Biochim. et Biohys. Acta* 55: 250—252.
- Skreb, Y. et Loncan, B. 1964 Activite de la phosphatase acide chez fragments d'amibes irradiés, *ibid.* 80: 523—525.
- Upton, A. C. 1963 The nucleus of cancer cell: effects of ionizing radiation, *Exp. cell Res. Suppl.* 9: 538.